ANIMAL EXPERIMENTS OF MYCOBACTERIUM LEPRAE

Yoh Nakagawa and Masahiro Nakamura

Department of Bacteriology, Kurume University
School of Medicine, Kurume-shi.

The effects of various following experimental methods to the affections of leprosy on mice and developing chick embryos have been tested.

1. Subcutaneous or intraperitoneal injections of glandular mucin and Ota's solution containing trypan blue, diatom, and Kali Jodi, into mice before or after the inoculation of Myc. Leprae.
 2. Intraperitoneal injection of cobra venom before the inoculation of lepra bacilli.
 3. Intracerebral inoculation of Myc. leprae into suckling or very young mice.
 4. Inoculation of Myc. leprae into yolk sacs of developing chick embryos.
- No results which promoted the propagation of lepra bacilli was obtained in all experiments.

人癩の動物実験に関する研究

久留米大学医学部細菌学教室 中 川 洋, 中 村 昌 弘

(昭和29年6月8日受稿)

人癩動物実験の模擬実験として鼠癩発症促進に関する研究⁽¹⁾⁽²⁾を行いつつあるが、一方には直接人癩菌の動物接種実験を試みつつあるので、今回はその2・3について報告したいと思う。今回行つた人癩菌の動物実験は先人⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾によつて、いささかみるべき成績をえたものの方法の追試とこれに多少の創意を加味したもの並に結核菌の培養手段として用いられる卵黄内培養方法⁽⁷⁾⁽⁸⁾等の諸方法を行つたものである。

実 験 方 法

供試材料：恵楓園より分与をうけた人癩結節の生塩水による10~20倍稀釈液を用いた。

供試動物：幼若並に成熟マウスを用いたほかに孵化5日の有精鶏卵を用いた。供試動物数は原則として各群5例とした。

接種部位：マウスでは右膝ベキ部皮下、腹腔内、脳内及び睪丸内によつた。孵化鶏卵では卵黄内方法によつた。

試用薬物：

- 1) ムチン液；中村法⁽⁹⁾によつて牛顎下腺唾液より自家作製した2~4%溶液を用いた。
- 2) 10,000 倍のコブラ毒液。
- 3) 太田液⁽¹⁰⁾；トリパン青、硅藻土及び沃度加里各0.1gr 宛を生塩水 100cc に添加して充分磨砕したもの。

観察：孵化鶏卵群においては菌接種後10及び14日に直接塗抹標本並に Brucek 等⁽⁹⁾による集菌法によつて標本を作製した。その他の動物実験においては菌接種後3~5ヵ月後屠殺し、まず接種局所の肉眼的観察次に剖検による該部並に各種淋巴腺内臓における菌の存在の有無、更に病理組織学的観察を行つた。なお、途中で斃死したものについてはこれを成績より除外した。

実 験 成 績

1) ムチン及び太田液を用いての実験

本実験においては人癩乳剤に2%ムチン液を等量に加へ腹腔内に接種した群、これに後処置として接種翌日より15日毎に4%ムチン液を腹腔内に0.2cc 注射する群、30日毎に接種する群、2%ムチン液に等量の太田液を加へたものを癩乳剤に等量混じて接種する群、次に接種ルートに右膝ベキ部皮下としたもので、癩乳剤に2%ムチンを添加した群、この接種の前日に4%ムチン0.2cc を腹腔に授与前処置した群、この群に後処置として4%ムチンを15日毎に腹腔内に与へた群、30日毎に与へた群、前処置としてムチンの代りに太田液を右膝ベキ部皮下に与へた群。

これに後処置を行つた2群、対照として癩乳のみを腹腔内、右膝ベキ部皮下に接種した2群、合計13群を行ひ

3 カ月後にこれら動物を屠殺剖検し、所見を観察した。

その実験方法並に成績は第1表として掲げる。

第1表 人 類 菌 の 動 物 実 験

群	接 種 材 料		接種部位	接種前日の処置		後 処 置			実験 マウス 頭 数	所見
	菌 乳 剤	添 加 物		投与液	部位	投 与 液	投与間隔	部位		
1	恵楓園第十五号 結節の生塩水 10×液 0.2cc	2%ムチン	腹腔内	—	—	—	—	—	5	—
2	〃	〃	〃	—	—	4%ムチン 0.2 cc	15日毎	腹腔内	5	—
3	〃	〃	〃	—	—	〃	30日毎	〃	5	—
4	〃	2%ムチン+太田液	〃	—	—	—	—	—	2	—
5	〃	2%ムチン	右膝ベ キ部皮 下	—	—	—	—	—	3	—
6	〃	〃	〃	4%ムチン 0.2 cc	腹腔内	—	—	—	5	—
7	〃	〃	〃	〃	〃	4%ムチン 0.2 cc	15日毎	腹腔内	5	—
8	〃	〃	〃	〃	〃	〃	30日毎	〃	3	—
9	〃	〃	〃	太田液 0.2 cc	右膝ベ キ部	—	—	—	5	—
10	〃	〃	〃	〃	〃	2%ムチン+ 太田液 0.2cc	15日毎	右膝ベ キ部	5	—
11	〃	〃	〃	〃	〃	〃	30日毎	〃	3	—
12	〃	〃	腹腔内	—	—	—	—	—	2	—
13	〃	〃	右膝ベ キ部皮 下	—	—	—	—	—	2	—

えられた成績はすべて陰性であつて、抗酸菌の増殖像も類細胞の出現も認められなかつた。

2) コブラ毒前処置による実験

1 万倍コブラ毒 0.2cc を類菌接種24時間前に動物の腹腔内に注射する群、コブラ毒の 0.1cc を注射する群。此の両群共翌日人類菌浮游液を皮下、腹腔内、睪丸内及び脳内に接種する。次にコブラ毒の 0.1cc を前処置後、翌日、類菌乳剤に等量に 4% ムチン液を加へて接種した群、前処置のコブラ毒を 0.05cc にした群、コブラ毒を 0.2cc にした群、

合計 5 群について行つた。本実験においても 3 カ月後に屠殺剖検し所見を観察した。その成績は第2表に掲げ

る。

表に示すように、この実験では第1群の脳内に 0.03cc 人類乳剤が接種された3例のうちの1例の肝臓に抗酸菌の群の集合が認められた。しかしこの所見は類細胞の出現を伴っていないし、抗酸菌の菌形、配列からして、類菌とは甚しく異つた抗酸菌であつた。但し、次代への植つぎ、抗酸菌用培地への培養を行っていない。また第3群の睪丸内接種群の4例中1例に右睪丸内に抗酸菌の中等度の集団を1カ所に認めた例に遭遇した。しかし、これも類細胞の浸潤を伴っていなかつたため、類菌の増殖したのではない感を深くしたが、累代接種及び抗酸菌用培地への培養を行っていないので断定は憚り度い。

第2表 コブラ毒前処置による人糞菌の動物接種実験

実験番号	実験方法				成熟マウス頭数	実験成績
	前処置	接種材料	接種部位	接種量		
I	10,000倍コブラ毒0.2ccを糞菌乳剤に接種24時間前に動物の腹腔内に注射す。	人糞結節生塩水20倍乳剤 (恵楓園第17号)	皮下	0.2cc	3	(一)
			腹腔内	0.2	3	
			睪丸内	0.05	3	
			脳内	0.03	3	
II	10,000倍コブラ毒0.1ccを同上処置す。	同上 (恵楓園第18号)	皮下	0.2	5	(一)
			腹腔内	0.2	5	
			睪丸内	0.05	3	
			脳内	0.03	2	
III	同上	同上菌液に4%ムチン液を等量加えたもの (恵楓園第18号)	腹腔内	0.2	4	(一)
			睪丸内	0.05	4	
			脳内	0.03	2	
					右睪丸内に抗酸菌中等度	
IV	10,000倍コブラ毒0.05ccを同上処置す。	同上 (恵楓園第17号)	皮下	0.2	3	(一)
			腹腔内	0.2	3	
			睪丸内	0.05	3	
			脳内	0.03	3	
V	10,000倍コブラ毒0.2ccを同上処置す。	同上	皮下	0.2	5	(一)
			腹腔内	0.2	5	
			睪丸内	0.05	4	
			脳内	0.03	4	

3) 幼若動物を用いての実験

供試動物は生後5, 7及び12日のものと対照として成熟マウスを用いた。接種材料は人糞材料の20倍生塩水乳剤そのもの及びこれに等量の2%ムチン液を加へたものとし、対照には加熱死菌を用いた。接種ルートは脳内に行つた。接種量は0.02~0.03ccである。その成績は第3表に示す。剖検は2ヵ月後に行つた。

第3表 幼若動物を用いての人糞動物実験

実験番号	実験方法: マウスの脳内に接種	供試動物		実験成績
	接種材料	年令	頭数	
I	人糞結節生塩水20倍乳剤 (恵楓園第18号)	生後5日	7	(一)
	2%ムチン同上乳剤	〃	8	
II	〃	生後7日	3	(一)
	〃	〃	3	
III	〃	生後12日	5	(一)
	〃	〃	5	
IV	〃	成熟	4	(一)
	〃	〃	4	
V (対照)	加熱死菌	生後12日	5	(一)
	2%ムチン人糞加熱死菌	〃	5	

実験成績はすべて陰性で、菌形すら認めえなかつた。

4) 卵黄内接種実験

孵化5日の有精卵を用いた。その卵黄内に人糞乳剤の0.2~0.5ccを無菌的に接種して、10日間培養ののち、それら卵黄の直接塗抹標本並に集菌法を用いて標本作製した。その成績は第4表に掲げる。

第4表 人糞菌の卵黄内培養実験

有精卵	群	実験方法並に成績		
		供試卵数	培養日数	成績
孵化5日卵	I	実験	5	10 (一)*
		対照	2	10 (一)
	II	実験	5	14 (一) [雑菌2]
		対照	2	14 (一)

* 卵黄内のみに菌数コ、但し増殖像なし。

成績は第1群の実験卵中の1コに卵黄内のみに散在性の菌数コを認めたが、増殖像はなかつた。その他では集菌法を用いても菌形をみつめえなかつた。

総括並に考按

人糞菌の動物実験については枚挙にいとまない程の研究が行はれているが現在までみるべき成績があげられていない。人糞菌の他種動物への移植実験においても人糞菌側の病原性の増強による試みと被接種動物側の感受性

の上昇による試みとがある。

今回の実験においては主として後者の点について 2.3 の試みを行つた。近来、この方面の研究にはウイルスの実験動物への適応実験として、レントゲン線照射、コーチゾンの投与、ムチンの前処置等がなされている。今回試みた実験は嘗て人類の動物実験においてみるべき成績をあげたという方法のほかに、ウイルスの方面に用いられた方法も加へて行つた。

ムチンの前処置についてはウイルスの研究の外にも、H. P. Lambert 等⁽¹¹⁾ の感染増強の実験がある。ムチンの前処置は明かに動物の病原微生物に対する正常抵抗力の低下を来すものらしく、感染が容易になると云われている。

今回はムチンの前処置並に後処置に更に太田教授⁽¹⁰⁾ が人糞菌の家鶏への接種に試用したトリパン青硅藻土沃度カリ混合液による処置を併用したが、予想の結果はえられなかつた。

次にこれも被検動物側の抵抗力低下を来すと考へられるコブラ毒前処置を高木⁽⁹⁾ の方法に倣つたものに更にムチンをも作用させて実験を行つたが、この場合も成績は陰性に終始した。高木等の実験を考察すると、供試動物多数の中に、認められるべき成績をえたものは数例に過ぎなかつたことからして、蛇毒の前処置の外に不明の因子が人糞菌の増殖に寄与したものと考へられるために、今回の実験も更に多数の動物を用うることによつて、何らかの手がかりがえられるかもしれない希望がないでもない。ことに他の実験では抗酸菌の存在さへも認められなかつたのに、この実験群では人糞菌とは今のところ考へてはいないが、先ず抗酸性菌の集団を少数例に認めたことでも、今後再検討の要ある実験と考へている。

次に幼若マウスへの接種実験はウイルス学の領域に慣用されている方法でもあり、もし他種動物に人糞に対する正常抗体が産生されるならば、生後間もなくの時期で正常抗体の産生される以前に人糞菌を接種したならば或

は感染をおこすのではないかとの考へのもとと細菌を全く細胞寄生性の病原体と想定して直ちにウイルスの特性と共通に考へるアイデアのもとにマウスの脳内接種を試みたのであるが、これも全く予想に反して認むべき結果をえなかつた。

最後に卵黄内接種をこれもウイルスの特性と同時に結核菌のカテゴリーに人糞菌を想定して行つたが、この場合も人糞菌は両者に全く属しない態度をとつた。

結 論

マウスを用いて自家牛顎下腺ムチンの前処置並に後処置、太田液の前処置並に後処置、更にこれら処置の併用、及びコブラ毒の前処置、幼若マウス脳内接種及び有精卵黄内接種等の方法を利用して人糞菌の動物実験を行つたが、認むべき成績はえられなかつた。

文 献

- 1) 中村・神田・新宮：レブラ，22 (2)，93，昭28. 3月
- 2) 中村・新宮：レブラ，22 (2)，97，昭28.3月
- 3) 高木・福島・三井：レブラ，6 (1)，113，昭10. 1月
- 4) 高木：実験医学雑誌，19 (10)，1494，昭10.10 月
- 5) 戸田：レブラ，12 (1)，1，昭16，1月
- 6) 小河：レブラ，18 (4)，93，昭24，11月
- 7) 占部・中川：東京医事新誌，3126 号，717，昭14. 3月
- 8) J. W. Brueck, G. J. Buddingh: P. S. E. B. M., 80 (4)，589，1952. 8
- 9) 中村・遠藤：日本医事新報，1279，昭23. 10 月
- 10) 太田・日戸・中村：東京医事新誌，3147，昭14.
- 11) H. P. Lambert, H. Smith & J.: J. Infect., Dis., 93 (1) 93，1953.